Nicht f. d. Austausch

Universitäts-Kinderklinik der Charité Berlin
Dir.: Prof. Dr. G. Bessau

Ueber die Wirkung des Vitamin C auf die Widerstandsfähigkeit gegen die experimentelle Conjunctivaldiphtherie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Helmut Großmann
aus Potsdam

am 30. April 1937

Buch- und Kunstdruckerei F. Labusch, Benneckenstein im Harz
1937

M 46

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Herr Prof. Dr. Siebeck
Referent: Herr Prof. Dr. Bessau

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Im verschiedenartigen Verlauf von Infektionskrankheiten spiegeln sich die Unterschiede der Widerstandskräfte, welche den einzelnen Individuen eigen sind. Es ist möglich, von der Resistenz bei klinisch oder experimentell beobachteten Infektionen Rückschlüsse auf die Zweckmäßigkeit oder Schädlichkeit von Umwelteinflüssen vor oder während der Erkrankung zu ziehen. Nach dem Fortschritt unserer Erkenntnisse über die Bedeutung der Vitamine ist es berechtigt, einen Zusammenhang zwischen der Widerstandskraft des Körpers gegen Infektionen und dem Gehalt des Organismus bzw. seiner Nahrung an Vitaminen anzunehmen.

Stepp[1] beschrieb 1927 die „Anfälligkeit" bei Avitaminosen. Nach P. György[1] werden Infektionskrankheiten durch Vitamin C günstig beeinflußt. Um diesen allgemeinen Zusammenhängen zwischen Infektionen und Vitaminen näherzukommen, bemühten wir uns, die Frage enger zu fassen, und zwar nur die Beeinflussung der experimentellen Schleimhautdiphtherie durch Vitamin C zu beobachten.

Zu derselben Frage stellte Bieling[2] 1927 fest, daß die Dosis letalis von Diphtherietoxin für das skorbutkranke Meerschweinchen um die Hälfte herabgesetzt sei im Vergleich zu gesunden Tieren. Lorentz[3] (1933) ist der Überzeugung, daß die Beeinflussung durch Diphtherieserum zugunsten einer Immunität nur in Gegenwart von Vitamin C stattfinden könne. Lereboullet[4] sah bei toxischer Diphtherie Erfolge durch Nebennierenpräparat + Vitamin C. Bei der großen Bedeutung, welche die Nebennieren für die Diphtherievergiftung haben, liegt es nahe, nach einer Wirkung von Nebennieren- und besonders Nebennierenrindenpräparaten auf den Diphtherieverlauf zu forschen. Allerdings haben Versuche aus der Berliner Universitätskinderklinik (Bock und Aicham) ergeben, daß ein Nebennierenrindenpräparat ohne Vitamin C weder bei Diphtheriebacilleninfektion, noch bei Diphtherietoxinvergiftung einen merkbaren Einfluß zeigt. Bei unseren Versuchen war jedoch ein günstiger Einfluß von Nebennierenrindenpräparat + Vitamin C an Meerschweinchen deutlich.

Thaddea[5] sah eine lebensverlängernde Wirkung durch Nebennierenrinde mit Vitamin C bei Meerschweinchen, welche durch Di.-Bouillon-Kultur vergiftet waren. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam bereits 1927 W. J. M. Scott[6].

Bevor wir die eigenen Versuchsbedingungen beschreiben, soll der eindeutige Verlauf eines Vorversuchs zeigen, welche Richtung wir einzuschlagen hatten. Von 6 Meerschweinchen wurden 2 vitamin-C-frei gefüttert, 2 Tiere mit Rüben und Heu und 2 mit einer Zulage von je 10 mg Vitamin C täglich per os in Form von „Cebion" (Merck*) außer der Normalfütterung von Rüben und Heu. Als nach 20 Tagen bei den beiden ersten Meerschweinchen Zeichen von Skorbut auftraten, wurden alle Tiere nach dem Bessauschen Verfahren (siehe unten) an den Conjunctiven mit Diphtheriebacillen infiziert. Die beiden Skorbuttiere gingen nach 2 Tagen ein, die normal ernährten Tiere bekamen eiterige Einschmelzungen der infizierten Bulbi, während die vitamin-C-reich gefütterten Tiere nur entzündliche Rötungen und Schwellungen an den Bindehäuten zeigten, welche aber abheilten, ohne daß es zu einer Panophthalmie kam.

Dieses Ergebnis erschien eindeutig und wichtig genug, so daß wir zu seiner Bestätigung weitere Versuche auf breiterer Grundlage ansetzten. Und zwar wurden 6 Tierreihen mit je 22 Meerschweinchen folgendermaßen ernährt:

Reihe I: Vitamin C-frei.
„ II: Normal mit Rüben und Heu.
„ III: wie II + 10 mg Vitamin C täglich.
„ IV: wie II + 30 mg Vitamin C täglich.
„ V: wie II + 50 mg Vitamin C täglich.
„ VI: wie II + 175 mg Vitamin C täglich während der ersten 6 Tage, dann 75 mg Vitamin C täglich.

Die Versuchsbedingungen, unter denen die Tiere gehalten wurden, waren folgende: Je 11 Meerschweinchen waren in einem Stall von der Größe 50 × 50 × 50 cm untergebracht. Die Wände bestanden aus Drahtgittern. Die Käfige befanden sich unter denselben Licht-, Luft- und Temperaturverhältnissen. Allerdings muß schon hier gesagt werden, worauf wir bei der Beurteilung der Versuche Wert legen müssen, daß die Tierreihen I—IV zur selben Jahreszeit, und zwar im September, dagegen Reihe V im November bis Dezember und Reihe VI im Februar im Versuch waren. Die Meerschweinchen wurden alle aus derselben Quelle bezogen, waren 6—8 Wochen alt und hatten durchschnittlich ein Anfangsgewicht von 200—250 g. Es starben im Verlauf der Versuche vor der Infektion interkurrent

* Die Firma Merck-Darmstadt hatte uns für die folgenden Versuche freundlicherweise eine größere Menge von „Cebion-Tabletten" zur Verfügung gestellt.

1 Tier der Reihe I, 2 Tiere der Reihe II, 1 der Reihe III und 3 Tiere der Reihe V. Diese Ausfälle wurden durch neue Meerschweinchen unter den gleichen Versuchsbedingungen ersetzt, damit die ursprüngliche Zahl eingehalten werden konnte.

Die Tiere der ersten Versuchsreihe erhielten die Skorbutnahrung nach Matmon[7]: 49% Haferflocken, 20% Weizenkleie, 20% Gerstenmehl, 10% Fischmehl, 1% Kochsalz. Diese Mischung wird 2 Stunden lang im Autoklaven bei 120° erhitzt. Mit Wasser angerührt wurde sie von den Tieren gut gefressen. Die Meerschweinchen der Reihe I waren im Gegensatz zu den anderen Tieren so untergebracht, daß sie durch die Seitengitter kein frisches Futter erreichen konnten. Außerdem saßen sie auf einem engmaschigen Gitter, um auch von ihrem eigenen Kot ferngehalten zu werden. Die Beobachtung der Tiere ließ deutlich den allmählichen Übergang in den skorbutischen Zustand erkennen. Während der ersten Tage fraßen sie mit Appetit und bewegten sich munter. Nach Ablauf von 10 Tagen erschienen sie verändert und unruhig. Nach 14 Tagen wurde das vorher seidige Fell struppig und verlor seinen Schimmer. Die Bewegungen schienen Schmerzen zu bereiten. Zusammengekauert saßen die Tiere in den Ecken des Käfigs. Zu Beginn der 3. Woche verlor die Haut ihre Weichheit und begann sich über den Gelenken zu spannen. Den Kopf tief auf den Boden gesenkt, krochen die Tiere nur mühsam und fraßen kaum noch von selbst. Die Wangenschleimhaut war an einzelnen Stellen ulceriert, die Zähne teilweise gelockert. Röntgenaufnahmen zeigten subperiostale Blutungen und Gelenkauftreibungen. Am 20. Tag nach Beginn der Versuchsfütterung wurden nun alle Tiere wegen der inzwischen so deutlich aufgetretenen Skorbutzeichen der Reihe I in der von Bessau angegebenen Weise infiziert:

Die cocainisierte Conjunctiva tarsi des Unterlides eines Auges wird mit einem glühenden Spatel verschorft. Auf diesem Brandschorf wird eine Öse einer trüben Aufschwemmung von Diphtheriebacillen (eine Öse von einer Löffler-Kultur in 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung) verrieben. Derselbe Brandschorf wird zur Kontrolle am anderen Unterlide gesetzt, ohne daß hier infiziert wird. Nach 18 Stunden, nach 24 Stunden und weiter nach je 12 Stunden wurde die Reaktion protokolliert. Die Fütterung der Tiere blieb wie vor der Infektion.

Das klinische Ergebnis war folgendes: Alle 22 Skorbuttiere gingen ein, und zwar starben in der 1. Woche nach der Infektion 4 Tiere; 16 Tage nach derselben waren alle tot. Alle Tiere der Reihen II bis VI — um es vor den Einzelheiten vorwegzunehmen — blieben am Leben. Die Krankheitserscheinungen an den Augen, welche in ihrer

Verschiedenartigkeit immerhin ein Bild von der allgemeinen Widerstandsfähigkeit geben mögen, ließen sich nach folgenden klinischen Formen einteilen:

1. Ohne makroskopisch sichtbaren Befund, 2. mehr oder weniger starke Veränderungen im Sinne einer Keratoconjunctivitis, 3. Ulcus corneae, gelegentlich mit Keratocele, 4. Panophthalmie mit völligem Verlust des Bulbus. In der folgenden Tabelle ist angegeben, bei wieviel Tieren in den einzelnen Versuchsreihen die erwähnten Krankheitserscheinungen auftraten.

Tabelle 1.

Nr.		I. Skorbut	II. Normal	III. + 10 mg Vitamin C	IV. + 30 mg Vitamin C	V. + 50 mg Vitamin C	VI. + 17[illegible] bzw. 70 Vitamin
1.	Ohne Befund	0 (*0%*)	6 (*27%*)	13 (*59%*)	14 (*64%*)	9 (*41%*)	14 (*64*
2.	Keratoconjunctivitis .	0 (*0%*)	10 (*46%*)	9 (*41%*)	3 (*14%*)	4 (*18%*)	7 (*32*
3.	Ulcus corneae . . .	8 (*36%*)	0 (*0%*)	0 (*0%*)	4 (*18%*)	2 (*9%*)	0 ((
4.	Panophthalmie . . .	14 (*64%*)	6 (*27%*)	0 (*0%*)	1 (*4%*)	7 (*32%*)	1 ((
		22 (*100%*)	22 (*100%*)	22 (*100%*)	22 (*100%*)	22 (*100%*)	22 (*100*

Aus der Tabelle können wir folgendes ersehen: Die Skorbuttiere (Reihe I) zeigten bei weitem die stärksten Erscheinungen der diphtherischen Entzündung. Deutlich besser waren die Ergebnisse bei den normal gefütterten Tieren (Reihe II), und wiederum günstiger bei Reihe III mit 10 mg Vitamin C-Zulage zur Normalkost. Reihe IV fiel trotz 3facher Vitaminzulage nicht günstiger aus als Reihe III. Reihe V (Dezember) ist kaum günstiger als Reihe II (Normalfütterung im September). Reihe VI (relativ größte Menge Vitamin C im Februar) entspricht nur etwa der Reihe IV.

Der Vergleich von Reihe III und IV legt die Frage nahe, ob durch die Zulage von 30 mg Vitamin C schon das Optimum der Vitaminwirkung überschritten ist. Das Ergebnis von Reihe V und VI ist für diese Frage allerdings nur unter Vorbehalt zu verwerten, da hier auch noch der unbestimmte Faktor der Jahreszeit hinzukommt. Die 6 Versuchsreihen wurden aus äußeren Gründen nicht alle zur gleichen Zeit angesetzt. Es kann allerdings berücksichtigt werden, daß derselbe Diphtheriebacillenstamm benutzt wurde, daß die Meerschweinchen ungefähr dasselbe Alter und Durchschnittsgewicht hatten, aus derselben Zucht mit gleicher Vorfütterung stammten, und daß schließlich dieselben Käfige verwandt wurden. Außer dem jahreszeitlichen Einfluß muß die Möglichkeit einer Überdosierung im Sinne einer Hypervitaminose in Betracht gezogen werden. Auf

jeden Fall liegen die Verhältnisse nicht so einfach, daß etwa der ungünstige Einfluß der Jahreszeit durch höhere Vitamin C-Gaben ausgeglichen werden kann. Welcher von beiden Faktoren der entscheidende ist, oder ob sich beide summieren, läßt sich auf Grund unserer Versuche nicht bestimmen. Hierzu wären weitere Experimente nötig, in denen die beiden Faktoren, der jahreszeitliche Einfluß und die Hypervitaminose, in ihren Wirkungen getrennt beobachtet werden könnten.

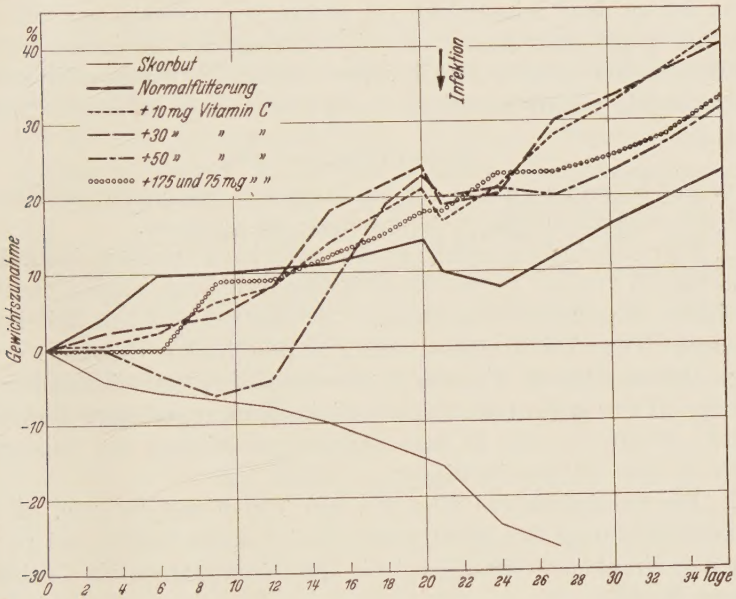

Tabelle 2.

Zur Beurteilung der optimalen Dosis von Vitamin C können wir neben der Wirkung auf die diphtherische Entzündung in unseren Versuchen auch den Verlauf der Gewichtskurve heranziehen. Das Bild gewinnt eine gewisse Einheitlichkeit, da die Gewichtsveränderungen der Tiere ziemlich mit den klinischen Erscheinungen übereinstimmen. Tab. 2 zeigt die Kurven für die durchschnittlichen prozentualen Gewichtszunahmen und -abnahmen der einzelnen Reihen im Verhältnis zu den durchschnittlichen Anfangsgewichten.

Wir sehen, daß die Skorbuttiere von Anfang an abnehmen. Am 27. Tage haben die noch lebenden 18 Tiere durchschnittlich 27% abgenommen. Die normal gefütterten Tiere nahmen anfangs gut zu, blieben aber nach dem 13. Tage hinter der Reihe III und IV zurück.

Reihe V nimmt in den ersten 9 Tagen ab, um dann in reichlich einer Woche die anderen einzuholen. Reihe V und VI liegen in der relativen Gewichtszunahme am 36. Tage des Versuchs zwischen den normal gefütterten Meerschweinchen und denen der Reihen III und IV. Also hinsichtlich des Gewichtes wurde durch die Vitaminzulage von 30 mg statt 10 mg täglich kein besseres Ergebnis erreicht; und noch weniger durch noch größere Zulagen. Wenn wir nun den klinischen Verlauf und die Gewichtskurve zusammen betrachten, kommen wir zu dem Schluß, daß für unsere Meerschweinchen von 200 bis 250 g bei etwa 10 mg Vitamin C-Zulage ein Optimum für die Widerstandsfähigkeit gegen die experimentelle Schleimhautdiphtherie und für die relativ günstigste Gewichtszunahme zu liegen scheint.

Zusammenfassung.

1. Der bösartige Verlauf der beschriebenen Schleimhautdiphtherie bei der experimentellen C-Avitaminose ist erwiesen.

2. Meerschweinchen, welche zu der normalen Fütterung eine Zulage von täglich 10 bzw. 30 mg Ascorbinsäure erhielten, zeigten deutlich geringere Krankheitserscheinungen als die zur gleichen Zeit beobachteten Tiere bei Normalfütterung ohne Vitamin C-Zulage.

3. Bei sehr hohen Vitamin C-Dosen erschien die Wirksamkeit in bezug auf den Ablauf der Diphtherie im ganzen geringer. Es bleibt offen, ob die Ursache in dem ungünstigen Einfluß der Jahreszeit oder in einer Hypervitaminose zu suchen ist.

4. Die Gewichtskurve zeigt bei den Tieren mit 10 bzw. 30 mg Vitamin C-Zulage den günstigsten Anstieg, so daß schon bei 10 mg für den Krankheitsverlauf und die Gewichtszunahme ein Optimum liegen dürfte.

Literaturverzeichnis.

[1] Stepp u. György, „Avitaminosen". Berlin: Julius Springer 1927. — [2] Bieling, Dtsch. med. Wschr. **1927**, 182, 228. — [3] Lorentz, Münch. med. Wschr. **1933**, 1388. — [4] Lereboullet, Presse méd. **1927**, 137. — [5] Thaddea, Klin. Wschr. **1935**, Nr 36, 1275. — [6] W. J. M. Scott, „Endokrinologie" **1931** (London) 529. — [7] Matmon, Zit. nach Scheunert, Dtsch. med. Wschr. **1933**, 241.

Meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. Bessau und Herrn Prof. Dr. Schönfeld, danke ich für die Ueberlassung des Themas.

Besonders gedenke ich auch der wertvollen Hilfe, die mir durch den leider kürzlich verstorbenen Herrn Dr. med. Bock zuteil geworden ist.

Ebenfalls danke ich der Fa. Merck, Darmstadt, für die Ueberlassung der Mengen C Vitamin, die ich zum Versuch benötigte.

Lebenslauf.

Ich, Paul Helmut Großmann, bin als Sohn des damaligen Regierungsrates Dr. phil. Friedrich Großmann und dessen Ehefrau Kaethe, geb. Seeliger, am 29. Oktober 1910 in Potsdam geboren. Oktober 1916 kam ich auf die Vorschule und Oktober 1919 in das Auguste-Viktoria-Gymnasium zu Potsdam, wo ich Oktober 1929 die Reifeprüfung bestand. Mein Studium führte ich bis auf ein Semester in München in Berlin durch und bestand dort die ärztliche Vorprüfung im Februar 1933. Am 7. Februar 1936 absolvierte ich die ärztliche Staatsprüfung in Berlin. Nach $2^1/_2$ Monaten als Medizinalpraktikant an der Kinderklinik der Charité Berlin war ich von Mai bis Juni 1936 im Achenbach-Kreiskrankenhaus in Königs-Wusterhausen, und danach bin ich seit $7^1/_2$ Monaten in der Johanniterheilanstalt Sorge bei Benneckenstein im Harz tätig.

Die Arbeit erschien als Dissertation in der Monatsschrift für Kinderheilkunde Band 65, Heft 1.